Untersuchungen aus dem chemischen Laboratorium der medicinischen Facultät in Innsbruck.

1. Über die Trommer'sche Zuckerreaction im Harn.

Von Prof. **Richard Maly.**

(Vorgelegt in der Sitzung am 9. März 1871.)

Gelegentlich eines Falles von Diabetes (im Beginn der Entwicklung) beobachtete ich einen Harn, der durch sein hohes specifisches Gewicht und die Symptome des Kranken auf obige Diagnose schliessen liess, der aber keine Trommer'sche Probe gab. Er wurde mir zur Untersuchung übergeben, und es war leicht, ihn durch Hefe in Alkoholgährung zu bringen [1].

Ich wurde dadurch dazu geführt, eine genaue Aufmerksamkeit der Kupferoxydreaction im Harn zuzuwenden, und war im Verlaufe oft überrascht durch die prononcirte Eigenschaft des Harn, die genannte Reaction zu verhindern, um so mehr als die meisten harnchemischen Anleitungen und physiologisch chemischen Werke diesen Punkt nicht berühren, oder nur gelegentlich erwähnen, dass die Anwesenheit von Ammoniak, indem es löslich auf das Kupferoxydul einwirkt, die Reaction beeinträchtige. Nur in Kühne's Lehrbuch der physiologischen Chemie fand ich pag. 518—520 ausführlicher die Thatsache erörtert, dass man häufig normalem Harn Zucker hinzufügen kann, und dann bei der Trommer'schen Reaction wohl Reduction aber keine Ausscheidung von Kupferoxydul erhält, und dass diese Erscheinung der Gegenwart mehreren Substanzen zuzuschreiben ist, von denen die eine Kreatinin ist. Alles was ich darüber in Kühne's Buche fand, ist mir mit gleichem Resultate gelungen, und ich habe dieselben zum Theil quantitativ zu vervollständigen vermocht.

Zunächst seien, bevor ich zeige, wie man die versagende Reaction in der Regel wieder positiv machen kann, folgende Versuche um so mehr angeführt, als sie nicht nur Kühne's An-

[1] Im späteren Verlaufe nahm dieser Harn die Eigenschaften eines exquisiten diabetischen an, und gab intensive Trommer'sche Reaction.

gaben bestätigen, sondern auch einen wichtigen, von anderen Autoren nur unvollständig oder nicht berührten Gegenstand betreffen.

Um zu sehen, wie weit die, die Trommer'sche Reaction verdeckende Eigenschaft von normalem Harne geht, wurde folgende Versuchsreihe mit dem Morgenharne eines gesunden 30jährigen Mannes vom 20. Jänner unternommen. Die zum Harne gefügte Zuckerlösung war aus im Vacuum getrocknetem käuflichem Traubenzucker bereitet.

I. Einprocentige Zuckerlösung.

	CC. Harn		CC. Zuckerlös.	Resultate der Trommer-sehen Probe.
1.	5	und	1/2	Kein Oxydul, gelb u. klar bis auf einige Phosphatflocken.
2.	5		1	
3.	5		1 1/2	Beim Erhitzen, selbst bis zum Kochen gelbe oder braungelbe Lösungen ohne Abscheidung von gelbem oder rothem Oxydul. Nach einigen Stunden waren in allen Proben immer dunkelwerdende schmutzig grüne schwebende Ausscheidungen.
4.	5		2	
5.	5		3	
6.	5		4	
7.	5		5	
8.	5		6	
9.	5		7	
10.	5		10	
11.	5		20	Nunmehr trat starke gelbe Fällung ein.
12.	5		25—30	

II. Mit zweiprocentiger Zuckerlösung.

CC. Harn		CC. Zuckerlös.	
5	mit	1/2 bis 2	Kein Oxydul; nach einiger Zeit leichte Flocken.
5		2 1/2 bis 5	Erst nichts, nach einigem Stehen schmutzig grüne Trübungen.
5		8	Nun lebhaft gelbe Fällung, die bald rothbraun wurde. Würde sofort als Zuckerreaction gelten.

Es genügen diese wenigen Versuche um zu sehen, wenn man nach der Abscheidung des Kupferoxyduls urtheilt, wie sehr viel

Zucker man übersehen kann. Vielleicht mitunter noch mehr, der Probeharn war kein besonders ausgewählter, doch waren die meisten anderen von mir untersuchten Harne eher quantitativ in ihrer Hemmungswirkung nachstehend [1].

Wie noch einige normale Harne, so wurden auch einige pathologische in dieser Richtung geprüft. Letztere stammten von folgenden Krankheitsfällen:

1. Pericarditis
2. Insuff. v. Aort.
3. Emphys. pulmon.
4. Tuberculos.
5. Myelitis & Exudat. pleurit.
6. Tremores potator.
7. Perityphlitis
8. Tumor. lienis (?)

und gaben alle mit etwas Zucker versetzt (1 CC. 1% Lös. auf 5 CC. Harn) ein negatives Resultat, mit Ausnahme von Nr. 6, einem klaren ungemein blassen Harn, der die zugefügte kleine Zuckermenge durch einen deutlichen orangen Niederschlag anzeigte.

Dem allen gegenüber waren ein paar Versuche über die Empfindlichkeit der Trommer'schen Probe mit reiner Traubenzuckerlösung angezeigt. Es wurde dazu eine 1% Zuckerlösung genommen. Von ihr gingen circa 20 Tropfen auf 1 CC.; ein Tropfen enthielt also 0·0005 Grm. Zucker. Wurden zwei Tropfen mit etwa 5 CC. Wasser gemischt, so erhielt man bei Ausführung der Probe während des Erhitzens einen rothen Schimmer, und nach einigen Minuten einen deutlichen Kupferoxydulniederschlag. Drei, vier Tropfen gaben die Reaction steigend deutlicher, ein Tropfen kaum mehr. Es ist also bei einer Flüssigkeitsmenge von 5 CC. 1 Milligramm Zucker die Grenze, aber dieses ist unverkennbar. Wurden statt 5 CC. Wasser, 5 CC. eines Harns genommen, so blieb die Reaction auch aus, wenn statt zwei Tropfen Zuckerlösung 1, 2 oder 3 CC. zugesetzt wurden, daher die 20 und 30fache Menge Zucker hiebei nicht aufgefunden werden kann, gegenüber reinem Zuckerwasser, und der Harn als eine

---

[1] Es hängt dabei auch von der Ausführung der Reaction einiges ab. Meist setzt man nur so viel Kupfervitriol zum alkalisirten Harn, dass sich das ausgeschiedene blaue Hydroxyd wieder löst, so wurde auch hier verfahren. Setzt man den Vitriol aber bis zur bleibenden Trübung zu, so erhält man früher die Oxydulabscheidung, wenngleich meist schmutziggrün.

für die Trommer'sche Reaction höchst störende Flüssigkeit bezeichnet werden muss.

Die Negativität der Reaction bezieht sich aber nicht darauf, dass keine Reduction des Kupferoxydes statthat, denn diese findet wie an der Gelbfärbung der blauen Flüssigkeit beobachtet wird, wirklich und resp. reichlich statt, sondern, wie schon angedeutet wurde, auf das Ausbleiben der Kupferoxydulausscheidung, und Kühne in seinem trefflichen Lehrbuche sagt: „der normale Harn muss demnach noch Stoffe enthalten, welche mit freiem Alkali gemischt Kupferoxydul in Lösung zu erhalten vermögen."

Ich habe durch mehrfache Versuche die einzelnen Körper des Harns auf die Störung der Zuckerreaction untersucht. Sie wurden ausgeführt mit 1 und 3 proc. Zuckerlösung.

Harnstoff. 5 CC. einer zweiprocentigen Harnstofflösung, also von dem durchschnittlichen Concentrationsgrade des Harns mit 1 CC. einer einprocentigen Zuckerlösung gaben die Reaction in unveränderter Weise. Auch als ein ziemlich grosser Harnstoffkrystall in etwa 3 CC. Wasser gelöst war, liessen sich darin $^2/_{10}$ CC. einer einprocentigen Zuckerlösung nachweisen, durch eine Oxydulfällung einige Secunden nach dem Erhitzen zum Kochen. Manches Mal wird die erst gelbe Oxydulfällung bald missfarbig.

Harnsäure stört in geringer Menge, wie sie etwa im Harn vorkommen kann, nicht. Bei grösseren Mengen wird durch die Bildung von wahrscheinlich harnsaurem Kupfer die Entstehung einer klaren blauen Flüssigkeit verhindert, es scheidet sich ein milchig trübender Niederschlag ab, aber beim Erhitzen bekommt man immer noch eine Oxydulfällung.

Ebenso wurde nicht störend beobachtet die Gegenwart von Milchsäure, Oxalsäure, Taurin, Parabansäure, Glycocoll und Alloxan.

Hingegen ist die Anwesenheit von Kreatinin, wie auch Kühne angegeben hat in dessen Lehrbuch pag. 520 (nach Versuchen von Winogradoff), von wesentlichem Einfluss, und ich habe denselben genauer quantitativ verfolgt.

Es wurde dazu schön krystallisirtes, aus Harn gewonnenes salzsaures Kreatinin benützt, und eine Lösung davon in der Concentration bereitet, dass sie 1·32 Procente salzsaures Kreatinin oder 1·00 Procente Kreatinin enthielt. Von dieser Lösung

wurden steigende Mengen zu je 1 CC. einer 1% Zuckerlösung gesetzt, und damit die Trommer'sche Probe mit thunlichster Gleichförmigkeit ausgeführt. (Das Kupfersulfat wurde zur alkalisirten Lösung immer in der Menge zugetropft, dass eine blaue stark trübe Lösung entstand.)

CC. Zuckerlös.		CC. Kreatininlös.	
1	und	1/2	Reiche orange Fällung.
1		1—1 1/2	Etwas später gelbe Fällung.
1		2	Beim Erhitzen bis zum Kochen gelb und klar; nach einiger Zeit schwach gelber Niederschlag.
1		2 1/2	
1		3	Gelb, klar und bleibend.

Um noch näher die Grenze der ausbleibenden Fällung zu bestimmen:

CC. Zuckerlös.		CC. Kreatininlös.	
1	und	2·7	Kleine Spuren Kupferoxydul.
1	„	2·8	Bleibt klar.

Sonach wären, da die Kreatininlösung einprocentig ist, eben 0·028 Gramm oder 28 Milligramm hinreichend, die durch 10 Milligramm Zucker abgeschiedene Kupferoxydulmenge zu lösen. Wird die Kreatininmenge vermindert, so wird nach kurzem wenigstens eine Kupferoxydulabscheidung beobachtet.

Nach Fehling und Neubauer reduziren 180· Gewichtstheile Zucker 396·8 Gewichtstheile Kupferoxyd, also 0·01 Gramm Zucker 0·0220 Gramm Kupferoxyd. Diese Menge Kupferoxyd, resp. davon stammendes Oxydul = 0·01978 Gramm, müsste in 0·018 Gramm Kreatinin gelöst bleiben. Dividirt man beide Zahlen, nämlich 0·028 Kreatinin und 0·01987 Kupferoxydul durch ihre Atomgewichte, so erhält man Zahlen, welche sich verhalten wie 1 : 1·1, oder ein Molekül Kreatinin hält gelöst 1 Atom Kupferoxydul (Cu = 31·7). Dies spricht nun dafür, dass das Kreatinin mit Kupferoxydul ein Metallderivat im bezeichneten Atomenverhältniss gibt, und dass diese Verbindung durch Kali nicht zerlegt wird, etwa so, wie Kali bei Gegenwart von Weinsäure das Kupferoxyd nicht fällt.

Da es von Interesse war, die Störung vom Kreatinin auf die Zuckerreaction genauer zu kennen, wurden noch mehrere quan-

titative Bestimmungen ausgeführt. Dabei wurden nach verschiedenen Versuchen die besten Resultate durch auf folgende Weise angestellte Titrirversuche gewonnen. Es wurde eine gewogene Quantität von meist salzsaurem Kreatinin in Wasser gelöst, mit etwas Kali und einigen CC. einer verdünnten Zuckerlösung versetzt, dann erwärmt, und unter fortwährendem Heisshalten der Flüssigkeit in einem Kölbchen eine Kupferlösung von C_u Gehalt so lange vorsichtig zutröpfeln gelassen, bis das erste Kupferoxydul sich auszuscheiden begann. Die Flüssigkeit im Kölbchen färbt sich hiebei in dem Masse als Kupferoxydul in der Flüssigkeit sich löst, gelb dann roth, wird aber nach einigem Stehen bei Luftzutritt grün.

Versuch 1. 0·1788 Gramm salzsaures Kreatinin verbrauchten 6·4 CC. Fehling'scher Lösung (von 0·3463 Gramm Kupfervitriol in 10 CC.) bis zum Auftreten der ersten erkennbaren Trübung durch Cu_2O in der diesmal dunkel gewordenen Flüssigkeit.

Verhält. Kreatinin: $Cu_2O = 1·19 : 0·87$.

Versuch 2. 0·2733 Gramm salzsaures Kreatinin brauchten bis zum Auftreten des ersten gelben Kupferoxydul 20·2 CC. einer alkalischen Kupferlösung in der das Kupferoxyd durch Glycerin gelöst erhalten wurde, und von der 1 CC. gerade 0·005 Gramm Kupferoxyd enthielt. Dieselbe Kupferlösung diente auch zu nachfolgenden zwei Versuchen.

Verhält. Kreatinin: $Cu_2 = 1·82 : 1·27$.

Versuch. 3. 0·2723 Gramm salzsaures Kreatinin hielt in Lösung das Oxydul von 26·3 CC. obiger Kupferlösung.

Verhält. Kreatinin: $Cu_2O = 1·82 : 1·65$.

Versuch 4. 0·2314 Gramm salzsaures Kreatinin verbrauchten 20·8 CC. Kupferlösung.

Verhält. Kreatinin: $Cu_2O = 1·54 : 1·31$.

Ein fünfter Versuch wurde in anderer Weise ausgeführt, indem dabei Kupferlösung im Überschusse zugesetzt, das ausgeschiedene Kupferoxydul abfiltrirt und dann in der alkalischen roth gefärbten Lösung die Menge des gelösten Kupfers auf gewichtsanalytischem Wege bestimmt wurde.

Versuch 5. Auf 0·1310 Gramm salzsaures Kreatinin wurde nach obigem Verfahren 0·061 Gramm Kupferoxyd gefunden.

Verhält. Kreatinin: Cu_2O — 0·87 : 0·76.

Bezieht man in diesen Versuchen das Verhältniss des in der alkalischen Lösung gebliebenen Kupferoxyduls zum Kreatinin auf 1 Molekül des letzteren, so erhält man Atome Kupferoxydul Cu_2O (Cu = 31·7):

Versuch	Molek. Kreatinin		Atom. Cu_2O
1	Molek. Kreatinin	1	Atom. Cu_2O 0·7
2		1	0·7
3		1	0·9
4		1	0·8
5	„	1	„ 0·9

Die nur mässige Übereinstimmung der erhaltenen Zahlen, welche man hiebei wohl auch nicht so genau wie bei einer accreditirten chemischen Methode verlangen kann, liegt zum Theil darin, dass man in der mitunter ziemlich dunkel gewordenen Flüssigkeit sich nicht so genau über das erste Eintreten des ausgeschiedenen Kupferoxyduls orientiren kann, doch kann man wohl annehmen, dass 1 Molekül Kreatinin 1 Atom Kupferoxydul entspricht, und dass dieses durch jenes in der alkalischen Flüssigkeit gelöst erhalten wird.

Bleibt man aber genau bei den Versuchen und nimmt statt 1 Atom Cu_2O nur 0·8, so hält ein Molekül Kreatinin (= 113) 57·12 Gewichtstheile Cu_2O in Lösung, und da diese Menge von 28·8 Gewichtstheilen Zucker erzeugt wird, so verdecken 113 Gewichtstheile Kreatinin die Anwesenheit von 28·8 Gewichtstheilen Zucker oder in annähernd runder Zahl 4 Gramm Kreatinin die Anwesenheit von 1 Gramm Zucker.

Daraus sieht man, dass die kleinen Zuckermengen des normalen Harns sonach nicht durch Cu_2O Abscheidung aufgedeckt werden können. Nach Neubauer beträgt die pro die ausgeschiedene Kreatininmenge circa 1·00 Gramm, was auf die durchschnittliche Harnmenge von 1500 CC. in Procenten 0·067 macht, und es sollte was an Zucker über ein Viertel davon beträgt, durch die Trommer'sche Probe nachweisbar sein.

Wir haben gesehen, dass dies nicht der Fall ist, und dass viel mehr Zucker der Reation entgeht.

Es muss also noch nach anderen Körpern gesehen werden. Dabei liesse sich zunächst an Xanthin etc. denken, wegen ihrer dem Kreatinin analogen Constitution, aber ihre Menge ist offenbar zu klein.

Es hat sich jedoch gezeigt, dass ganz besonders die Körper hier zu nennen sind, welche durch Thierkohle dem Harn entzogen werden. Gute Thierkohle entfärbt stark gelben Harn rasch und vollständig in etwa einstündigem Digeriren. Die entfärbte gleich concentrirte Flüssigkeit gibt unter gleichen Umständen nach Zuckerzusatz die Cu_2O Abscheidung weit eher, und die Reaction bei weitem reiner, das Oxydul ist gelb oder orange und nicht so missfärbig schmutziggrün, wie bei nicht entfärbtem Harn.

Eigener Morgenharn mit steigender Menge 1% Zuckerlösung versetzt, und die Trommer'sche Proben ganz gleich gemacht:

	a) gelber Harn	*b)* entfärbt
5 CC. Harn mit 1 CC. Fehling's Lösung und 1/2 CC. Zuckerlösung	nichts;	nichts;
5 CC. Harn mit 1/2 CC. Zuckerlösung und 2 CC. Fehling's Lösung	nichts, bloss Phosphate;	die rasch nieder fallenden Phosphate deutlich gelb;
5 CC. Harn mit 1 CC. Zuckerlösung und 3 CC. Fehling's Lösung	nichts;	gelber Niederschlag;
5 CC. Harn mit 2 CC. Zuckerlösung und 4 CC. Fehlings Lösung	undeutlich gelb;	starker gelber Niederschlag.

Der Unterschied zwischen gelben und entfärbten Harn ist recht auffallend, und abgesehen von dem viel früheren Eintreten des Niederschlages ist dieser nicht störend gefärbt.

Unter den Substanzen, welche die Kohle dem Harn entzieht gehört, wie man neuestens durch Schunk und Neubauer weiss, die Oxalursäure, deren amidartige Constitution auch wieder um ein kleines der Trommer'schen Probe hinderlich sein kann. Wesentlicher ist aber der Farbstoff des Harns selbst, den man als

im hohen Grade Cu_2O lösend bezeichnen muss, und man wird daher bei einer einigermassen genaueren Zuckerreaction, falls man nicht einen diabetischen Harn par excellence vor sich hat, nicht unterlassen können, den Harn zu entfärben.

Ich habe die Entfärbungskohle mit Alkohol digerirt, auch einmal damit ausgekocht, aber dabei wird der Farbstoff von der Kohle nicht wieder losgelassen, und das abgedampfte alkoholische Extract, das sehr wenig gefärbt ist, hält zwar etwas Cu_2O in Lösung, aber nicht der Differenz von gelbem und farblosem Harn entsprechend.

Da man Harnfarbstoff nicht rein darstellen und also nicht wägen kann, so weiss ich nicht die Cu_2O lösende Kraft desselben mit der vom Kreatinin quantitativ zu vergleichen, aber nach den Erfahrungen von zahlreichen Proben muss ich angeben, dass ich den störenden Einfluss des Farbstoffes auf die Trommer'sche Probe viel grösser halte als den des Kreatinins.

Was die Frage anbelangt, ob das Kreatinin als solches oder durch seine Zersetzungsproducte mit Kali Cu_2O lösend wirkt, so ist das durch folgendes erledigt. Frisch gefälltes rothes Kupferoxydul, namentlich leicht aber oranges Oxydulhydrat löst sich in wässrigem salzsaurem Kreatinin und diese Flüssigkeit wird durch Kali nicht gefällt. Oder was dasselbe ist, in einer Lösung von Kupferchlorür (durch Auflösen von Cu_2O in Salzsäure erhalten) hindert Kreatinin die Ausfällung des Oxyduls. Dies beweist, dass ein Zersetzungsproduct des Kreatinins z. B. Ammoniak etc. nicht dabei im Spiele ist, und dass letzteres durch die Eigenschaft eine durch Kali nicht zersetzbare Kupferoxydulverbindung zu geben ausgezeichnet ist.

In Bezug auf das Ammoniak herrscht überhaupt eine irrige Meinung, die in einige Bücher übergegangen ist. Es werden da Ammoniak und dessen Salze als die Trommer'sche Probe beeinträchtigend angegeben, aber das sind sie nicht, wenigstens nicht für Kupferoxydulmengen, wie sie dabei in Betracht kommen. Und zwar genirt weder freies Ammoniak noch Salmiak oder oxalsaures Ammoniak. Z. B. führe ich folgende paar Versuche an, gemacht mit einer 1% Zuckerlösung und einer 2% Salmiaklösung.

1 CC. Zuckerlös. u.	1 CC. Salmiaklösung	Normales rothes Oxydul.
1	2	detto starke Reaction.
1	3	Niederschlag stark, orange.
½ „	3	Starker deutlicher Niederschlag.

Dabei war in der Flüssigkeit der letzten Probe 6 Mal so viel Salmiak als Zucker. Von einer hindernden Wirkung des Ammoniak's kann also füglich nicht die Rede sein. Dessgleichen thut Äthylamin der Reaction keinen Eintrag.

Ich habe noch versucht, das gelöst gebliebene Kupferoxydul wieder auszufällen, es seiner Verbindung durch ein anderes Oxyd zu entreissen und zur Abscheidung zu veranlassen. Dabei habe ich nicht ungünstige Resultate mit Zinkoxyd erhalten. Hat man nach Anstellung der Trommer'schen Probe ein negatives Resultat, nämlich keinen Niederschlag erhalten, und gibt jetzt zu der heissen Flüssigkeit eine Messerspitze voll Zinkoxyd, erwärmt noch einen Moment, so dass ein Theil des Zinkoxydes hinaufgerissen wird, so sieht man nach kurzem Absitzenlassen einen gelben Ring von Cu_2O haltendem Zinkoxyd, der sich gegen das unten liegen gebliebene schneeweisse Zinkoxyd gut abgrenzt. Es scheint also durch das Zinkoxyd das Kupferoxydul zum Theil deplacirt und abgeschieden zu werden. Dabei brauche ich wohl kaum zu erwähnen, dass der Kupfergehalt der gelben Fällung constatirt worden ist, und dass vom Zinkoxyd weder aus Harn noch vom kalisch gebräunten Zucker Farbstoff mitgerissen wird.

Wenn ich schliesslich nach den mitgetheilten und meinen Erfahrungen über die medicinisch so viel geübte Trommer'sche Probe resumire, so finde ich nicht nothwendig, dieselbe, die zu der physiologisch-chemisch besten Reaction gehört, verlassen zu sollen, wie dies Huizinga[1] will und dafür Molybdänsäure anräth, sondern ich würde nur folgende Cautelen damit in Verbindung

[1] Pflüger's Archiv 1871.

bringen. Der Farbstoff ist aus der jeweiligen Flüssigkeit (Harn etc.) durch Digeriren mit Thierkohle wegzunehmen; der Kupfervitriol ist der alkalisch gemachten Flüssigkeit so lange hinzuzusetzen, dass ein kleiner Theil Kupferhydroxyd noch ungelöst ist, und dann wäre bei nochmaligem Erhitzen auf die Gelbfärbung des hinzugebrachten Zinkoxyds zu achten. Die Empfindlichkeit einer reinen Zuckerlösung auf Kupfersalze, ist aber dabei nicht zu erreichen.